

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БЕТА-ЛАКТАМАЗНОЙ АКТИВНОСТИ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

М.А. Васильева, В.М. Семенов

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Реферат

Высокая частота неблагоприятных исходов поражений центральной нервной системы (ЦНС) у детей первого года жизни связана не в последнюю очередь с недостаточной эффективностью этиотропной терапии. Спинномозговая жидкость взрослых пациентов обладает бета-лактамазной активностью, уровень которой связан с параметрами эффективности лечения нейроинфекций. Целью исследования было измерить бета-лактамазную активность спинномозговой жидкости (СМЖ) у детей первого года жизни и оценить её клиническое значение.

Бета-лактамазная активность СМЖ была измерена у 110 детей в возрасте от 4 дней до 4,5 месяцев, в т.ч. недоношенных, с применением тест-системы «БИОЛАКТАМ» (ООО «Сивитал», Беларусь). СМЖ 85% обследованных детей обладала бета-лактамазной активностью (Me=16,18% (95% ДИ: 14,22...19,91)). Уровень бета-лактамазной активности СМЖ не зависел от возраста и массы тела ребенка, однако прямо был связан с концентрацией общего белка в СМЖ. Бета-лактамазная активность СМЖ не является дифференциально-диагностическим критерием в этой группе пациентов. С уровнем бета-лактамазной активности СМЖ у пациентов с нейроинфекциями положительно связаны общее число назначенных антибактериальных препаратов, применение препаратов, не относящихся к бета-лактамам, общая длительность лечения.

Ключевые слова: бета-лактамазная активность, спинномозговая жидкость, менингоэнцефалит, дети.

ASSESSING THE CLINICAL VALUE OF BETA-LACTAMASE ACTIVITY OF CEREBROSPINAL FLUID IN NEWBORNS AND INFANTS

M.A. Vasilyeva, V.M. Semenov

Educational Institution "Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University"

Abstract

The high frequency of adverse outcomes of lesions of central nervous system (CNS) in children of the first year of life is associated with the low effectiveness of etiotropic therapy. The beta-lactamase activity of cerebrospinal fluid is known in adult patients and is associated with some parameters of the effectiveness of treatment of neuroinfections.

The aim of the study was to measure beta-lactamase activity of cerebrospinal fluid (CSF) in newborns and infants and evaluate its clinical significance.

Beta-lactamase activity of CSF was measured in 110 children aged 4 days to 4.5 months including premature using the BIOLACTAM test system (Sivital, Belarus). 85% CSF samples demonstrated its beta-lactamase activity (Me=16.18% (95% CI: 14.22...19.91)). The level of beta-lactamase activity of CSF did not correlate with infant age and body weight but was directly related to the concentration of total protein in the CSF. Beta-lactamase activity of the CSF is not a differential diagnostic criterion in this group of patients. The total number of prescribed antibacterial drugs, the use of non-beta-lactam drugs and the total duration of treatment are positively associated with the beta-lactamase activity of CSF in patients with neuroinfections.

Key words: beta-lactamase activity, cerebrospinal fluid, meningoencephalitis, newborns, infants.

Адрес для корреспонденции: М.А. Васильева, e-mail: dr.vasilevamarina@gmail.com, тел.: +375 (29) 719 39 33

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции ЦНС у новорожденных и детей первого года жизни относятся к одним из наиболее тяжелых и неблагоприятных по своим последствиям заболеваниям. Среди всех инфекций ЦНС детей раннего возраста первое место занимают менингиты и менингоэнцефалиты. Заболеваемость гнойным менингитом, по разным данным, составляет 1-5 на 10 000 новорожденных. При этом до 80% всех случаев заболевания гнойным менингитом приходится на долю недоношенных детей.

Высокая смертность пациентов с инфекционными поражениями ЦНС либо развитие тяжелых последствий, таких как гидроцефалия, слепота, глухота, спастические парезы и параличи, эпилепсия, задержка психомоторного развития, заставляют искать новые возможности в диагностике и лечении данной патологии [1].

Широкий спектр возбудителей является характерным для нейроинфекций в данной возрастной группе: *S.agalactiae*, *E.coli*, *L.monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *Enterococcus spp.*, *H.influenzae*, *N.meningitidis*, *S.pneumoniae* и др. Поздние менингиты новорожденных в большинстве случаев являются реализацией госпитальной инфекции. Их этиология зависит от эпидемиологической ситуации в конкретных учреждениях. Основными возбудителями являются представители семейства *Enterobacteriaceae*, более редко – *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp*, *Staphylococcus aureus*, коагулазонегативные стафилококки и др.

Эмпирическая этиотропная терапия гнойного менингита у детей первого года жизни включает беталактамы антибактериальные препараты (пенициллин, ампициллин, цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, меропенем). К достоинствам данных препаратов относится способность проникать через гематоэнцефалический барьер и создавать в ликворе концентрации, значительно превышающие МПК значимых возбудителей. Мощное бактерицидное действие в отношении значимых возбудителей способствует быстрой элиминации возбудителя. Эффективность терапии в существенной степени зависит как от рационального выбора антибактериального препарата, так и от его способности достигать и, что очень важно, сохранять терапевтическую концентрацию в ликворе [2]. Основным механизмом инактивации беталактамов является гидролиз беталактамного кольца этих препаратов беталактамазами микробного происхождения. Кроме того известна роль человеческого сывороточного

альбумина в деградации бета-лактамов антибиотиков [3]. И значительно меньший вклад способны вносить антиидиотипические IgG. Суммарная активность этих факторов в биологической жидкости, в т.ч. ликворе может быть измерена и оценена [4]. Состав ликвора у детей первых месяцев жизни имеет отличия, которые могут оказать влияние на уровень бета-лактамазной активности ликвора. Кроме того, среди типичных возбудителей бактериальных менингитов у детей первого года жизни преобладают микроорганизмы, способные к конститутивному или индуцибельному синтезу бета-лактамаз, что делает актуальным изучение уровня бета-лактамазной активности ликвора при инфекционных поражениях ЦНС у детей этой возрастной группы.

Цель: определить уровень бета-лактамазной активности спинномозговой жидкости у детей первого года жизни, его клиническое значение, в т.ч. при терапии поражений центральной нервной системы с применением бета-лактамов антибиотиков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование являлось проспективным, формирование изучаемых групп пациентов, сбор клинических и лабораторных данных осуществлялся динамически, по ходу выполнения исследования. Проведенное нами клиническое исследование имело срезовой дизайн: изучаемый признак – бета-лактамазная активность сыворотки крови оценивался одновременно и однократно у всех лиц, входящих в анализируемые подгруппы. Исследование основывалось на пассивном наблюдении за динамикой развития заболевания и эффективностью проводимой антибактериальной терапии, не производилось никаких тестовых вмешательств.

Критерии включения: возраст 0-1 год, выполнение люмбальной пункции при подозрении об инфекционном характере поражения ЦНС на основании совокупности клинических и лабораторных данных.

Критерии исключения: один пациент был исключен из группы, так как в последующие месяцы у него был установлен диагноз первичного иммунодефицита.

В исследуемую группу вошли 110 детей (45 девочек и 65 мальчиков) в возрасте от 4 дней до 131 дня (средний возраст 25 дней), с гестационным возрастом от 26 до 42 недель, поступивших с июля 2009 г. по декабрь 2016 г. в педиатрические отделения УЗ «Витебский областной детский кли-

нический центр» из родильных домов, районных больниц, из дома. Недоношенными, постконцептуальный возраст которых на момент включения в исследование не достиг 37 недель, были 48 детей (42%).

Диагностика заболеваний у пациентов, вошедших в исследование, осуществлялась в соответствии с общими принципами и правилами клинической и лабораторной диагностики, изложенными в клинических протоколах диагностики и лечения, утвержденных Министерством Здравоохранения Республики Беларусь. Во время госпитализации пациентам были проведены следующие исследования: общий анализ крови; общий анализ мочи; общеклиническое исследование ликвора; биохимическое исследование крови: определение концентрации общего белка, глюкозы, мочевины, креатинина, С-реактивного белка, общего билирубина, связанного билирубина, натрия, калия, хлора, кальция и определение активности АсАТ, АлАТ; ЭКГ; консультация невролога, офтальмолога; оценка состояния питания (масса тела, рост). Все пациенты также прошли УЗИ головного мозга.

Избыток спинномозговой жидкости, полученной при диагностической люмбальной пункции, замораживали при -20°C для последующей оценки бета-лактамазной активности.

Для определения бета-лактамазной активности СМЖ была применена тест-система «БИО-ЛАКТАМ» (ООО «Сивитал», Беларусь).

Статистическая обработка данных осуществлялась с применением прикладного программного пакета «Statistica 10.0». Для оценки нормальности распределения был использован критерий Шапиро-Уилка. Коэффициенты корреляции рассчитывались по Спирмену. Межгрупповые различия в уровнях бета-лактамазной активности были оценены ранговым методом Краскела-Уоллиса. Статистическая значимость была установлена при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Спинномозговая жидкость 93 (85%) обследованных детей обладала собственной бета-лактамазной активностью, отличной от 0. Анализ распределения уровня бета-лактамазной активности СМЖ показал несоответствие его нормальному распределению.

Средний уровень выявленной нами бета-лактамазной активности в СМЖ составил 18,68% (95% ДИ: 15,95...21,40), медиана – 16,18% (95% ДИ: 14,22...19,91). Минимум был равен 0,00%, максимум – 69%. Разброс значений бета-лактамазной

активности образцов СМЖ в изученной выборке показан на рис. 1.

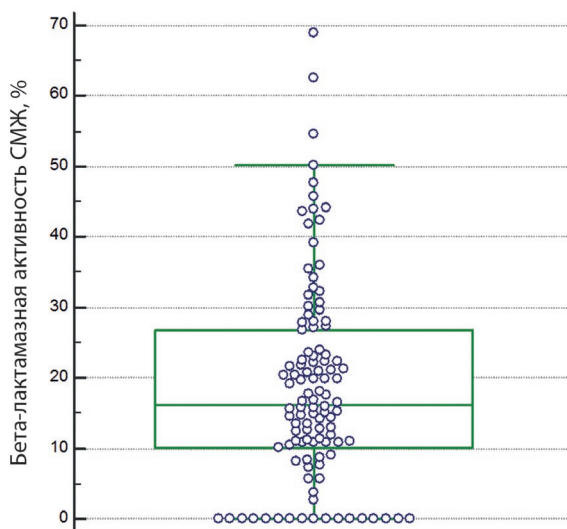


Рисунок 1. Анализ распределения бета-лактамазной активности спинномозговой жидкости

При сравнении полученных значений бета-лактамазной активности СМЖ у детей исследуемой возрастной группы с данными взрослых пациентов [5] можно отметить, что у детей значительно больше случаев отсутствия бета-лактамазной активности СМЖ (15 против 2,4%), наивысшее значение в исследуемой группе (69%) не достигло максимального уровня бета-лактамазной активности СМЖ у взрослых пациентов (97,8%).

Был проведен анализ возможной связи уровня бета-лактамазной активности СМЖ и некоторых клинических и лабораторных данных. Не выявлены корреляции между уровнем определяемой бета-лактамазной активности СМЖ и гестационным возрастом, постконцептуальным возрастом, а также массой пациентов. Установлен статистически значимый факт умеренной положительной корреляционной связи между уровнем бета-лактамазной активности и содержанием в СМЖ белка ($r=0,27$, $p<0,005$), длительностью госпитализации ($r=0,21$, $p<0,05$). Также существует умеренной силы отрицательная корреляционная связь между уровнем бета-лактамазной активности СМЖ и скоростью оседания эритроцитов крови ($r=-0,27$, $p<0,05$).

Выявленные закономерности указывают на то, что явление бета-лактамазной активности СМЖ частично может быть обусловлено белками ликвора. Согласно литературным данным, при инфекционных поражениях мозговых оболочек (особенно при гнойных менингитах) в ликворе

наблюдается увеличение концентрации глобулинов: α 1-глобулинов, иммуноглобулинов (преимущественно IgG и IgA) [6]. Альбумин не синтезируется клетками ЦНС, его наличие в ликворе является индикатором состояния проницаемости ГЭБ. Указанные белки имеют сывороточное происхождение, способны проникать через ГЭБ, поврежденный воспалительным процессом [7]. Таким образом, повышение бета-лактамазной активности ликвора при менингитах может быть связано с ростом концентрации как ЧСА, так и поликлональных IgG, обладающих каталитической активностью или α 1-глобулинов.

Для уточнения природы и клинической значимости бета-лактамазной активности СМЖ пациенты были разделены на 4 подгруппы согласно диагнозу, установленному при комплексном обследовании:

- подгруппа №1: пациенты с диагнозами Р39.9 – инфекция, специфичная для перинатального периода, менингоэнцефалит, Р37.9 – внутриутробная инфекция, менингоэнцефалит, G04 – менингоэнцефалит (n=43);
- подгруппа №2: пациенты с инфекционными заболеваниями прочей локализации (n=21);
- подгруппа №3: пациенты с внутрижелудочковыми и субарахноидальными кровоизлияниями гипоксического и травматического генеза – Р52, Р10, Р11 (n=19);
- подгруппа №4: пациенты с гипоксическим ишемическим поражением ЦНС, в остром периоде – Р91.0 и Р91.9 (n=27).

Показатели центральной тенденции бета-лактамазной активности СМЖ в вышеперечисленных подгруппах следующие: в подгруппе №1 $M=21,7$ (95% ДИ: 15,8...27,5), $Me=19,6$ (95% ДИ: 13,3...24,9), min 0,0, max 69,0; в подгруппе №2 $M=13,6$ (95% ДИ: 8,9...18,4), $Me=12,7$ (95% ДИ: 8,2...17,8), min 0,0, max 32,9; в подгруппе №3 $M=20,7$ (95% ДИ: 14,5...26,9), $Me=18,1$ (95% ДИ: 10,9...27,2), min 0,0, max 44,0; в подгруппе №4 $M=16,5$ (95% ДИ: 13,7...19,2), $Me=16$ (95% ДИ: 12,6...20,4) min 0,0, max 29,6 (Рис. 2).

Обращает на себя внимание тот факт, что бета-лактамазная активность СМЖ могла отсутствовать при всех вариантах диагноза. Сравнение подгрупп ранговым методом Краскела-Уоллиса не показало наличие статистически значимых различий между группами по уровню бета-лактамазной активности СМЖ. Следовательно, ни отрицательные, ни положительные значения бета-лактамазной активности СМЖ, полученные при исследовании данной группы детей, не могут использоваться

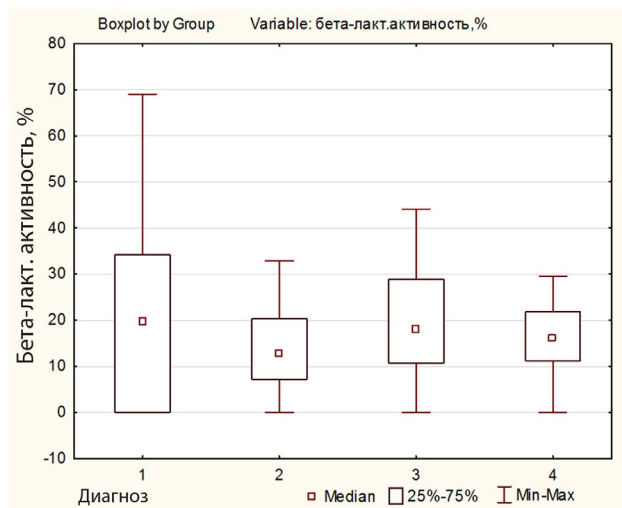


Рисунок 2. Уровни бета-лактамазной активности спинномозговой жидкости в подгруппах

для дифференциальной диагностики патологии у детей первых месяцев жизни.

Частотный анализ распределения значений бета-лактамазной активности отдельных проб СМЖ показывает, что данное распределение сильно смещено вправо, и большая часть проб ликвора не проявляет значимой бета-лактамазной активности (Рис. 3).

В то же время четко выделяется относительно небольшая группа образцов СМЖ, обладающих высокой (более 30%) бета-лактамазной активностью; количество данных случаев составляет 20 (18% от всей выборки), в том числе 14 случаев – в подгруппе пациентов с бактериальными менингитами (70%), 4 случая – в подгруппе пациентов с внутричерепными кровоизлияниями (20%) и только 2 случая – в подгруппе пациентов с инфекционными заболеваниями прочей локализации (10%). Можно предполагать, что высокий уровень бета-лактамазной активности СМЖ

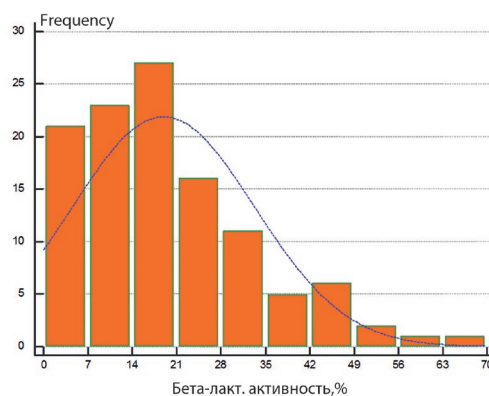


Рисунок 3. Частотный анализ распределения значений бета-лактамазной активности спинномозговой жидкости

способен снижать эффективность бета-лактамов в случае наличия у пациента нейтроинфекции бактериальной природы. Более того, образцы ликвора с наиболее высокой (более 44%) бета-лактазной активностью, отобранные у пациентов с бактериальными менингитами (всего 6, или 14%), могут содержать бета-лактамы, продуцируемые такими типичными для детей первых месяцев жизни возбудителями, как энтеробактерии или *S. aureus*.

Корреляционный анализ зависимости показателей эффективности антибактериальной терапии и уровня бета-лактазной активности СМЖ пациентов с нейтроинфекциями, выявил:

1. Прямую корреляцию между уровнем бета-лактазной активности СМЖ и продолжительностью госпитализации ($R=0,23$ при $p<0,05$ и $n=43$).

2. Прямую корреляцию между уровнем бета-лактазной активности СМЖ и общим количеством антибактериальных препаратов ($R=0,31$ при $p<0,05$ и $n=43$).

3. Прямую корреляцию между уровнем бета-лактазной активности СМЖ и фактом назначения пациенту антибиотиков, не относящихся к классу бета-лактамов ($R=0,28$ при $p<0,05$ и $n=43$).

ВЫВОДЫ

1. До 85% образцов СМЖ обладают собственной ненулевой бета-лактазной активностью.

2. Уровень бета-лактазной активности СМЖ не зависит от возраста и массы тела пациентов, включенных в исследование, однако максимальное значение в исследуемой группе ниже максимального уровня бета-лактазной активности СМЖ у взрослых пациентов.

3. Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем бета-лактазной активности и содержанием в СМЖ белка ($r=0,27$, $p<0,005$), однако имеющихся клинических данных недостаточно, чтобы оценить отдельно вклад альбумина и глобулинов в суммарную бета-лактазную активность СМЖ.

4. СМЖ 20 пациентов (18%) характеризуется высокой (более 30%) бета-лактазной активностью, 70% из них имеют диагноз нейтроинфекции, что косвенно может указывать на дополнительную продукцию бета-лактамов микроорганизмами-возбудителями данных заболеваний.

5. С более высокой бета-лактазной активностью СМЖ у пациентов с нейтроинфекциями

достоверно положительно связано общее число назначенных антибактериальных препаратов, применение препаратов, не относящихся к бета-лактамам, общая длительность лечения. Хотя выявленные в подгруппе корреляции являются умеренными или слабыми, в случае выявления высокой бета-лактазной активности у конкретного пациента состав проводимой ему антибактериальной терапии должен учитывать возможное снижение эффективности бета-лактамов препаратов: следует назначать либо антибиотики, более устойчивые к бета-лактамам бактерий (карбапенемы, цефалоспорины 4-го поколения), либо препараты из других фармакологических групп (гликопептиды, оксазолидиноны, фторхинолоны, аминогликозиды, рифамицины, и др.).

ЛИТЕРАТУРА

- Lucas, M.J. Neurological sequelae of bacterial meningitis/M.J. Lucas, M.C. Brouwer D.van de Beek// *Journal of Infection*.–2016.– Vol. 73, №1. – P. 18-27.
- Germovsek, E. Plasma and CSF pharmacokinetics of meropenem in neonates and young infants: results from the NeoMero studies/E. Germovsek, I. Lutsar, K. Kipper [et al]// *J Antimicrob Chemother*.–2018.– №73 (7).– P. 1908-1916.
- Семенов, В.М. Факторы макроорганизма, снижающие эффективность антибактериальной терапии, проводимой бета-лактамами/В.М. Семенов [и др.] // *Клиническая инфектология и паразитология*.– 2012.– №3-4 (03).– С. 25-42.
- Кубраков, К.М. Бета-лактазная активность ликвора при *Acinetobacter* гнойных менингоэнцефалитах/К.М. Кубраков, В.М. Семенов, И.А. Ковалева // *Новости хирургии*.– 2015.– Т. 23, № 4. – С.440-446.
- Жильцов, И.В. Бета-лактазная активность ликвора: методика определения и интерпретация/И.В. Жильцов [и др.]// *Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 67-й научной сессии сотрудников университета, Витебск, 2-3 февраля, 2012 г./Витебск: ВГМУ; редкол.: В.П. Дейкало [и др.].–Витебск, 2012.–С. 78–79.*
- Alekseeva, L.A. Diagnostic significance of the cerebrospinal fluid protein spectrum in bacterial and viral meningitis in children/L.A. Alekseeva, M.N. Sorokina// *Klin. Lab. Diagn*.–2001.–№7.–P.15-19.
- Takeoka, T. Polyacrylamide-gel disc electrophoresis of native cerebrospinal fluid proteins with special reference to immunoglobulins and some clinical applications/T. Takeoka [et al.]// *J. Neurol. Sci*.–1976.– Vol. 29, №2-4.–P. 213-239.